



WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Katedra i Klinika Onkologii, Hematologii Dziecięcej,  
Transplantologii Klinicznej i Pediatrii

Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu BIURO RADY DYSCYPLINY NAUKI MEDYCZNE	
wpł. dnia	12-08-2024
L. dz. RN-BM/	1129

Warszawa, 7.08.2024 r.

Prof. dr hab. n. med. Iwona Malinowska  
Katedra i Klinika Onkologii, Hematologii Dziecięcej,  
Transplantologii Klinicznej i Pediatrii  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
[iwona.malinowska@wum.edu.pl](mailto:iwona.malinowska@wum.edu.pl)

prof. dr hab. Agnieszka Hałóń

Recenzja pracy doktorskiej lek. Karoliny Liszki pt. „Ocena bezpieczeństwa i skuteczności profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem w oparciu o badania farmakokinetyki leku u dzieci poddanych intensywnej chemioterapii i/lub przeszczepieniu komórek hematopoetycznych”

Inwazyjne zakażenia grzybicze należą do głównych przyczyn chorobowości i śmiertelności wśród pacjentów o obniżonej odporności, stanowiąc istotny czynnik przyczyniający się do niepowodzenia terapii u pacjentów z białaczką i pacjentów poddawanych procedurze przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych.

Pozakonazol jest lekiem triazolowym drugiej generacji o silnym i szerokim działaniu grzybobójczym *in vitro* i *in vivo* przeciwko *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus (fumigatus, flavus i terreus)*, *Blastomyces dermatitidis*, *Trichosporon* i *Candida spp.* (tj. *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* i *C. inconspicua*). Pozakonazol wykazuje także działanie

grzybostatyczne wobec większości innych gatunków *Candida* spp., *Scedosporium*, *Coccidioides*, *Zygomycetes* i szczepów *Fusarium* (tj. *F. oxysporum* i *F. moniliforme*).

Pozakonazol działa poprzez hamowanie biosyntezy ergosterolu u grzybów. Ergosterol utrzymuje integralność błony komórkowej grzybów. Pozakonazol zapobiega demetylacji prekursorów ergosterolu (lanosterolu). Prekursory metylowanych steroli zakłócają funkcjonowanie błony komórkowej, powodując zahamowanie wzrostu i częściowo śmierć komórki.

Pozakonazol wskazany jest do leczenia i profilaktyki inwazyjnych zakażeń grzybiczych, takich jak aspergiloza, fuzarioza, chromoblastomykoza i kokcydioidmikoza, szczególnie u pacjentów z obniżoną odpornością.

Pozakonazol został po raz pierwszy zatwierdzony do stosowania u ludzi w postaci zawiesiny doustnej, ale zmienna biodostępność, odpowiedzialna za niespójną farmakokinetykę, doprowadziła do opracowania postaci tabletki o opóźnionym uwalnianiu.

Doustne zawiesiny pozakonazolu charakteryzują się słabym i bardzo zmiennym wchłanianiem, zależnym od współistniejących stanów chorobowych, przyjmowanych leków i diety. Natomiast tabletki o opóźnionym uwalnianiu wykazują bardziej stałą dostępność biologiczną, porównywalną z formą dożylną leku. Niestety tabletki o opóźnionym uwalnianiu nie jest dostępna w Polsce.

Wiadomo, że na biodostępność postaci doustnej negatywnie wpływa kilka czynników, np.: środki podnoszące pH żołądka lub promujące motorykę przewodu pokarmowego, antagoniści receptora histaminy-2 (H<sub>2</sub>RA) i leki zobojętniające sok żołądkowy, a także żywność.

Badania przeprowadzone u dzieci w ramach badań rejestracyjnych wykazały, że po podaniu 800 mg pozakonazolu w postaci zawiesiny doustnej na dobę w dawce podzielonej uzyskiwano stężenia podobne do stężeń u pacjentów w wieku od 18 do 64 lat.

Podobnie w badaniach profilaktycznych średnie stężenie pozakonazolu w stanie stacjonarnym było porównywalne u nastolatków (13 – 17 lat) ze średnim stężeniem pozakonazolu osiąganym u dorosłych ( $\geq 18$  lat).

Brak dostępnych danych farmakokinetycznych u dzieci i młodzieży w wieku poniżej 8 lat.

W związku z powyższym, temat podjęty przez Doktorantkę dotyczący bezpieczeństwa i skuteczności stosowania pozakonazolu u dzieci uważam za uzasadniony i niezwykle istotny dla klinicystów.

Celem przeprowadzonego projektu badawczego była ocena skuteczności i bezpieczeństwa profilaktyki przeciwgrzybiczej pozakonazolem w oparciu o analizę stężeń leku w osoczu u pediatrycznych pacjentów hematoonkologicznych. Analizowano wpływ stężeń spoza zakresu referencyjnego na występowanie niepowodzenia terapii i działań niepożądanych związanych z leczeniem. Parametry farmakokinetyczne zestawiono z danymi klinicznymi, oceniając wpływ czynników dodatkowych na stężenie leku w osoczu. Nadrzędnym celem projektu było wdrożenie terapeutycznego monitorowania stężenia pozakonazolu do codziennej praktyki w celu optymalizacji terapii i indywidualizacji postępowania u poszczególnych pacjentów.

Rozprawa doktorska lek. Karoliny Liszki jest bardzo obszerna, liczy ogółem 216 strony, zawiera 94 tabele, 7 rycin i 24 wykresy. Piśmiennictwo liczy 135 pozycji autorów polskich i zagranicznych, większość z ostatnich 10 lat. Doktorantka przygotowała wykaz skrótów używanych w pracy co znacznie ułatwia czytanie i rozumienie tematyki.

Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu nr 604/2020 z dnia 28.09.2020 roku na przeprowadzenie badania, której kopię zamieszczono na końcu pracy.

Redakcyjny podział pracy na rozdziały i ich wzajemne proporcje nie budzą zastrzeżeń poza podrozdziałem Materiał i metody, który jest krótki i nie zawiera wszystkich wymaganych treści.

We wstępie Doktorantka w sposób bardzo przejrzysty opisała rodzaj zakażeń występujących u pacjentów onkologicznych ze szczególnym uwzględnieniem zakażeń grzybiczych. Przedstawiła zasady profilaktyki i leczenia przeciwgrzybiczego, omówiła farmakokinetykę i farmakodynamikę pozakonazolu, wskazania do stosowania pozakonazolu oraz działania uboczne leku.

Następnie Doktorantka podkreśliła znaczenie i wagę problemu oceny skuteczności i bezpieczeństwa stosowania profilaktyki pozakonazolem, uzasadniła wybór tematu oraz potrzebę przeprowadzenia badania w grupie pacjentów pediatrycznych.

Cele projektu badań są innowacyjne i jasno sformułowane.

Opis metod powinien być spójny i zamieszczony w podrozdziale Materiał i metody. To w tym podrozdziale powinny znaleźć się informacje o analizowanych zmiennych farmakokinetycznych, których opis zawarty został we Wstępie a następnie w Wynikach na stronie 84. Ponadto w podrozdziale Materiał i metody należało podać okres obserwacji,

charakterystykę osób badanych, w tym metody doboru, wielkość badania (jak obliczono wymaganą liczbę osób badanych), oraz opis metod statystycznych.

Informacje o zastosowanych metodach statystycznych zawarte są w podrozdziale Wyniki. Błędem jest mieszanie opisu wyników z opisem celów, metod i dyskusji.

Badaną grupę stanowiło 171 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2020-2023. Pacjenci przyjmowali pozakonazol w ramach profilaktyki przeciwgrzybiczej. Uwzględniono dzieci przyjmujące pozakonazol zarówno w postaci zawiesiny doustnej, jak i w formie roztworu do infuzji dożylniej. Projekt podzielono na dwie fazy. W pierwszej części badano profile farmakokinetyczne pozakonazolu, oznaczając stężenie leku w osoczu w określonych punktach czasowych od przyjęcia preparatu. W kolejnej fazie badania prowadzono oznaczenia stężenia leku w osoczu w jednym punkcie czasowym, a następnie podejmowano próbę modyfikacji dawki pozakonazolu, dążąc do optymalizacji stężenia leku w osoczu. Starano się ocenić wpływ stężeń spoza zakresu referencyjnego na wystąpienie niepowodzenia terapii lub działań niepożądanych związanych z leczeniem. Następnie dokonano analizy wpływu stanów chorobowych przewodu pokarmowego, stężenia albumin, stosowanych leków na farmakokinetykę leku i jego stężenie w osoczu, a przez to na efekt kliniczny.

Doktorantka nie uzupełniła informacji o producencie pozakonazolu stosowanego u pacjentów.

Do pierwszej części badania, polegającej na wyznaczeniu pełnych profili farmakokinetycznych pozakonazolu, włączono 51 pacjentów w wieku od 1 do 18 roku życia. Mediana wieku wyniosła 7 lat. W młodszej grupie wiekowej ( $\leq 8$  roku życia) znalazło się 30 pacjentów, w tym 4 chorych poniżej 2 roku życia. Dwudziestu jeden chorych było powyżej 8 roku życia. Zgodnie z danymi podanymi w tekście na stronie 77 dominującym rozpoznaniem wśród pacjentów była ostra białaczka limfoblastyczna. Pozostali pacjenci byli leczeni z powodu: ostrej białaczki szpikowej, zespołu mielodysplastycznego, chłoniaka i in. Jedenastu chorych pozostawało pod opieką z powodu schorzenia hematologicznego, nieonkologicznego. Jednak istnieje niezgodność tych danych liczbowych chorych ze schorzeniami onkologicznymi i nieonkologicznymi z danymi przedstawionymi na wykresie 2 i w tabelach 22, 28, 29. Dwadzieścioro siedmioro dzieci było w trakcie leczenia za pomocą procedury przeszczepowej.

W drugiej części projektu oznaczano stężenie pozakonazolu w jednym punkcie czasowym – tuż przed podaniem porannej dawki leku w przypadku podaży doustnej lub przed rozpoczęciem infuzji w przypadku podaży dożylniej. Do tej części badania włączono 120 pacjentów.

Pięćdziesięcioro sześciu dzieci było w trakcie procedury przeszczepowej tj. w okresie kondycjonowania, w dobie przeszczepienia komórek krwiotwórczych lub w okresie po transplantacji, do czasu zakończenia leczenia immunosupresyjnego. Jedenastu pacjentów było w trakcie terapii komórkami CAR-T.

Stężenia pozakonazolu w osoczu oznaczono za pomocą zwalidowanej metody chromatografii cieczonej.

Podstawowymi parametrami farmakokinetycznymi w tym badaniu były maksymalne stężenie leku w osoczu ( $C_{max}$ ), całkowite pole pod krzywą (AUC<sub>0-t</sub>), średnie stężenie leku w osoczu ( $C_{avg}$ ), czas do osiągnięcia stężenia maksymalnego  $T_{max}$ . Zastosowane przez Doktorantkę metody analizy statystycznej nie budzą zastrzeżeń. Doktorantka nie podała informacji o oprogramowaniu zastosowanym do analiz statystycznych.

Wyniki badań własnych Doktorantka przedstawiła opisowo oraz w formie 82 tabel i 20 wykresów.

Doktorantka wykazała, że stężenie pozakonazolu jest stabilne w stanie stacjonarnym co umożliwia pobranie krwi w celu prowadzenia terapii w oparciu o monitorowanie stężenia terapeutycznego leku (TDM) w dowolnym momencie między kolejnymi dawkami leku.

Dominującym problemem u chorych okazały się niewystarczające stężenia pozakonazolu w osoczu. Stężenia zbyt wysokie obserwowano sporadycznie i nie odnotowano toksyczności związanej ze zbyt wysoką ekspozycją na pozakonazol.

Mimo że prawie połowa badanych pacjentów osiągała subterapeutyczne stężenia pozakonazolu w osoczu, w toku badania nie wykazano istotnej częstości niepowodzenia stosowanej profilaktyki. Pacjenci otrzymujący pozakonazol dożylnie uzyskali wyższe parametry farmakokinetyczne.

Interwencja polegająca na modyfikacji dawkowania o 30% w zależności od wyniku stężenia pozakonazolu w osoczu doprowadziła do normalizacji ekspozycji na lek u 50% chorych, jednak grupa pacjentów, u których udało się podjąć próbę optymalizacji dawkowania była ostatecznie bardzo ograniczona.

Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między wiekiem, płcią czy dawką pozakonazolu i stężeniem pozakonazolu w osoczu.

U pacjentów leczonych z udziałem HSCT odnotowywano niższe stężenia pozakonazolu, wykazując związek istotny statystycznie. Powikłania okołoprzeszczepowe istotnie wpływają

na farmakokinetykę pozakonazolu i osiągnięcie terapeutycznego stężenia leku w osoczu. Doktorantka podała informację, że obserwacje prowadzono do okresu zakończenia immunosupresji. Nie podała jednak danych u ilu pacjentów stosowano immunosupresję w celu profilaktyki GVHD i odrzucenia przeszczepu, a u ilu z powodu powikłań SCT (głównie aGVHD).

Na stężenie pozakonazolu miały wpływ podaż TPN, występowanie biegunki, hypoalbuminemia, podaż leków takich jak inhibitory pompy protonowej, metyloprednizolon, hydrokortyzon, ondansetron i lewetiracetam czy ryfampicyna.

Na podstawie przeprowadzonej analizy Doktorantka potwierdziła, że występuje zmienna biodostępność w przypadku stosowania zawiesiny doustnej pozakonazolu. Monitorowanie stężenia terapeutycznego pozakonazolu powinno być niezbędnym elementem terapii u pediatrycznych pacjentów hematologicznych, ponieważ wobec zmieniającej się dynamicznie sytuacji medycznej pacjenta nie można wprost przewidzieć ostatecznej ekspozycji chorego na lek, a tym samym być pewnym efektu klinicznego stosowanej terapii.

TDM pozwala wyselekcjonować pacjentów, u których zastosowane leczenie może nie być optymalne. Umożliwia podjęcie działań mających na celu poprawę skuteczności i bezpieczeństwa prowadzonej terapii poprzez zmianę dawkowania leku lub podjęcie decyzji o włączeniu innej substancji leczniczej.

Kwestie dotyczące farmakokinetyki pozakonazolu u dzieci, optymalnego sposobu dawkowania i docelowego stężenia leku w osoczu u chorych pediatrycznych wymagają dalszych badań. Konieczne są analizy z udziałem większej liczby pacjentów oraz dłuższy okres obserwacji w czasie terapii prowadzonej w oparciu o TDM.

W dyskusji Doktorantka opisała kluczowe wyniki w odniesieniu do celu badania, wskazała na ograniczenia jako potencjalne źródła błędów lub niedokładności. Doktorantka odniosła własne spostrzeżenia do wyników innych badaczy zajmujących się podobnymi zagadnieniami. Należy podkreślić umiejętność korzystania z piśmiennictwa naukowego oraz wiedzę teoretyczną dotyczącą badanych zagadnień. Doktorantka starała się nie tylko zinterpretować obserwacje własne, ale też wyjaśnić przyczyny zaobserwowanych zjawisk. Na podstawie analizy wyników własnych Doktorantka sformułowała 3 wnioski, które odnoszą się do założonych wcześniej celów. Dyskutując własne wyniki Doktorantka zwraca uwagę na ograniczenia wynikające z heterogenicznej grupy pacjentów, zmiennej sytuacji klinicznej. Podkreśla, że ocena przydatności badanych poziomów pozakonazolu u pacjentów pediatrycznych wymaga przeprowadzenia kolejnych analiz.

Treść pracy wyczerpująco rozwinęła problem naukowy zawarty w temacie i jest związana ściśle z cytowanym piśmiennictwem. Jednakże, styl cytowania wymaga naniesienia poprawek, aby odpowiadał jednemu z powszechnie stosowanych stylów cytowania (harwardzki czy inne). Wśród zacytowanych pozycji znajdują się strony internetowe, np. "Zwrotnik Raka - portal onkologiczny - <https://www.zwrotnikraka.pl/wp-content/uploads/2023/07/Zycie-po-nowotworze-RAPORT>", które nie zawsze zawierają informacje autoryzowane i recenzowane i nie powinny być wykorzystywane w opracowaniach naukowych.

Ponadto, przy cytowaniu prac elektronicznych należy podać autora, tytuł oraz podać adres elektroniczny i datę wykorzystania dokumentu.

Pozycja piśmiennictwa 5 i 16 to ta sama publikacja. W pozycji 132 błędnie podano nazwiska autorów.

Podsumowując, praca doktorska lek. Karoliny Liszki wnosi wkład do rozwoju wiedzy w rozpatrywanej dziedzinie.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone w art. 187 ust. 1-4 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669).

W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie lek. Karoliny Liszki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

